

⑫ 特 許 公 報 (B 2)

平4-2562

⑬ Int. Cl.⁵

A 61 K 7/00

識別記号

C	9051-4C
D	9051-4C
B	9051-4C
X	9051-4C

庁内整理番号

⑭ 公告 平成4年(1992)1月20日

発明の数 1 (全8頁)

⑮ 発明の名称 メラニン生成抑制外用剤

⑯ 特 願 昭58-30375

⑰ 公 開 昭59-157009

⑱ 出 願 昭58(1983)2月25日

⑲ 昭59(1984)9月6日

⑳ 発 明 者 高 橋 日 出 彦 東京都世田谷区祖師谷4-15-4

㉑ 出 願 人 株式会社 薬理学中央 東京都世田谷区祖師谷4-15-4
研究所

㉒ 代 理 人 弁理士 浅 村 皓 外4名

審 査 官 佐 伯 と も 子

㉓ 参 考 文 献 特開 昭56-8309 (JP, A) 特開 昭56-92215 (JP, A)
 特開 昭57-207543 (JP, A) 特開 昭47-1500 (JP, A)
 特公 昭32-9600 (JP, B1) 特公 昭33-6799 (JP, B1)
 特公 昭33-6800 (JP, B1) 特公 昭32-8100 (JP, B1)

1

2

⑳ 特許請求の範囲

1 チロシナーゼ阻害剤としてβ-ツヤブリシン、ハイドロキノン、ピロン化合物の一種もしくはそれ以上と、メラニン色素吸着剤として

分子式 $x\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{SiO}_2 \cdot y\text{H}_2\text{O}$ (式中、 $x=2\sim 5$ 、 $y=18\sim 20$ である)で表される水化ケイ酸アルミニウムに一つ以上の還元性物質を担持させた吸着剤

とを配合することを特徴とする抗肝斑、美白を目的とする軟膏及びクリーム。

2 非酸素性ドーパ酸化重合化阻害剤と、紫外線サンタン作用阻害剤としてビタミンC、塩酸システイン、システイン誘導体、グルタチオンの一種もしくはそれ以上をさらに配合する特許請求の範囲第1項記載の軟膏及びクリーム。

3 抗サンバーン及び抗サンタン作用を有する種々の物質のうち適当なもの一種をさらに配合する特許請求の範囲第1項に記載の軟膏及びクリーム。

4 活性酸素発生阻害剤及び活性酸素除去剤を配合する特許請求の範囲第1項に記載の軟膏及びクリーム。

5 角質溶解剤として尿素、サリチル酸またはその塩をさらに配合する特許請求の範囲第1項に記載の軟膏及びクリーム。

発明の詳細な説明

本発明は肝斑、雀卵斑の原因となるメラニン形成の増進を抑制し、且つは紫外線のサンタン作用を防ぎ、形成されたメラニン色素を脱色して、色白の美肌をつくり出す軟膏或はクリームに関する。

10 メラニン生成(melanogenesis)については完全に究明されているわけではないが、その過程の概要について下記三過程の存在にほぼ研究者の見解の一致が認められる。

(1) チロシン→ドーパ→ドーパクロームの形成に至る過程(チロシナーゼにより触媒される)
 (2) ドーパクローム→メラニンに至る酵素の関与しない、酸化反応を含む重合の過程、
 (3) 尚、メラニン生成過程には活性酵素(superoxides)により活性化される過程が含まれているといわれている。

従つて、メラニン生成の抑制には、(イ)チロシナーゼ阻害、(ロ)活性酵素発生の阻害、活性酵素除

去、(イ)紫外線遮断、(ロ)酸化反応の阻害、(ハ)重合過程の阻害、(ニ)生成するメラニンの分解、(ホ)メラニンの吸着などが考えられる。

周知の如く、メラニン色素は皮膚では上皮基底層に存在するメラノサイトで形成され、角質細胞に移行し、やがては角化した細胞の剥脱にともない体外へ失なわれる。従つて、皮膚のメラニン色素量は生成-消失の平衡によつて規定される。本発明者はこの点に注目して、メラニン色素の強力な吸着剤を発明したのであつた。

本発明のもう一つの特徴、根元的と云える特徴は、メラニン生成は幾多の過程にわかれ、それぞれに幾多の攻撃点があることである。従つて、多様の薬剤を使用し、それらの相乗作用を期待することが、本発明の特徴なのである。現在までも、メラニン生成の抑制による抗肝斑、美白効果などは必ずしも不可能ではなかつたが、攻撃点を単純化、単一化することにより、強力な薬剤或は高濃度の薬剤を使用する結果、致命的な副作用をさげ得なかつたのであつた。

本発明によれば、

チロシナーゼ阻害剤としてβ-ツヤブリシン、ハイドロキノン、ピロン化合物の一種もしくはそれ以上と、メラニン色素吸着剤として

分子式 $x\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot y\text{SiO}_2 \cdot z\text{H}_2\text{O}$ (式中、 $x=2\sim 5$ 、 $y=18\sim 20$ である)で表される水化ケイ酸アルミニウムに一つ以上の還元性物質を担持させた吸着剤

とを配合することにより上記欠陥を克服した抗肝斑、美白を目的とする軟膏またはクリームが提供される。

本発明の根元的、原理的特徴は以下の如く、要約しうる。

(1) メラニン生成過程の抑制には、多様な攻撃点があり、多彩な攻撃法によつて、相乗効果が生じ、個々の攻撃を専一に行うことによつて生ずる副作用を減弱しうる。

(2) メラニン色素の生成-消失の平衡を吸着剤の使用により消失の方へ移行させる。

以下に上述の原理を具体的に説明する。

I チロシナーゼ阻害剤

チロシナーゼ阻害作用を有する物質はかなり多く知られているが、そのうちでも臨床的にも使用されたものとして、ハイドロキノンとその

誘導体が有名である。このうち、ハイドロキノン自体は今まで幾多の臨床成績が得られている。結論的には、高濃度(4~6%)のハイドロキノンの長期使用では色白効果は明らかであるが、白斑などの副作用を伴い、使用不可能である。2%までのハイドロキノンの使用では副作用もないが、効果も明らかなでないと云う。

還元剤ハイドロキノンとは異なるβ-ツヤブリシンのチロシナーゼ阻害作用及びピロン化合物の阻害作用は還元作用とは全くことなるものである。

本発明者は、ハイドロキノンとβ-ツヤブリシンの併用、ハイドロキノンとピロン化合物の併用が、チロシナーゼ阻害作用の相乗効果を示すことを発見した。従つて、ハイドロキノン、ピロン化合物、β-ツヤブリシンを併用すれば、それぞれ単独では有効でない、或は軽度の作用しか示さない量で、強力な効果が得られるが、副作用が生じないことを期待しうることを知つた。尚、β-ツヤブリシンとピロン化合物間には相乗作用はなく、単に相加作用が見られるだけである。

例 1

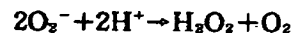
(β-ツヤブリシン及びハイドロキノンの各々、ならびに組合せのチロシナーゼ阻害作用)

マツシユルールのチロシナーゼ(シグマ社製)を使用し、チロシンを基質として生成するドーパクロームを測定するポメラント(Pomerantz 1963)の方法によつた。ピロン化合物としてはピロコメニン酸(Pyrocomenic acid)を用いた。マルトール、エチルマルトール、ヒドロキシマルトール、コージ酸などのピロン化合物には全て多少なりともチロシナーゼ阻害作用が認められ、同様の相乗作用がみられた。

表 I、II、III に実験結果を総括した。

II-(A) 活性酸素発生光化学反応の阻害剤

これにも種々のものが知られているが、スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)は、



の反応を触媒する酵素であり、グルコサミン塩は光化学反応による O_2^- 発生を阻害する。こう云う作用機序の異なる物質の併用は意味がある。

5

グルコサミンは不安定で使用不可能であり、塩酸グルコサミンも長期の安定性を望めないもので、グルコサミンのアシル体（アセチルー、パルミトイルー、ステアトイルーグルコサミンなど）を使用した方がよい。

グルコサミンには、メラノソーム形成を阻害する作用も知られている。

II-(B) 活性酸素除去剤

活性酸素除去作用をピロガロール自動酸化法 (S. Marklund and G. Marklund, Eur. J. Biochem. (1974) 47, 469) と 5-ヒドロキシドーバミン自動酸化法 (R.E. Heikkila and F. Cabbat. Analyt. Biochem. (1976) 75, 356) とでしらべると、アスコルビン酸とシステイン (cysteine: $C_6H_7NO_2S$) 誘導体が最強であつた。

例 2

(活性酸素除去作用)

ピロガロール自動酸化法と 5-ヒドロキシドーバミン自動酸化法とを用い、システイン誘導体、アスコルビン酸、などの完成酸素除去作用を測定した。実験成績は表IVに総括した。

III ドーバ酸化、重合阻害剤

多数の還元物質がドーバを出発物質とするメラニン形成反応を阻害しうるが、何と云つても L-システイン誘導体、アスコルビン酸の作用が強力であつた。

例 3

(還元剤の抑制効果)

ドーバ0.5%のりん酸バッファー溶液 (pH7.0) に空気を3日間吹きこんで生ずるメラニンを測定する (470m μ で吸光度を測定)。無阻害物質の対象を100%として、阻害物質による阻害を%で求めた (表V参照)

IV 長紫外線のドーバ酸化-重合促進作用の阻害剤

例 4

(長紫外線の阻害作用)

例3で行つた実験を長紫外線照射下で行うと、3時間でメラニンの形成が認められるに至る。

放射スペクトルが365~597.1nmの間に強い線スペクトルを有する高圧水銀ランプを使用し、0.5%ドーバ・りん酸バッファー溶液のメラニン形成を470m μ の吸光度で測定した (表VI参照)。

6

システイン誘導体の阻害作用が抜群であつたが、ピロン化合物、アスコルビン酸も明瞭な阻害作用を示した。

V メラニン分解剤

5 例 5

(メラニン分解能)

メラニンを分解する物質には、過酸化水素、過炭酸ソーダなどの酸化剤とシステイン、グルタチオンなどの還元剤があることを発見した。但し、酸化剤は重合過程を促進する作用があるので好ましくない。還元剤のメラニン分解作用はシステイン類が最強である (表VII参照)。

0.01%メラニン溶液 (pH6.2) にシステイン誘導体を加え、メラニンの分解を470m μ の吸光度で追及した。実験結果は表VIIに総括した。

VI メラニン吸着剤

本発明者の研究により天然の種々のシリカアルミナ化合物にメラニン吸着作用のあることが証明されたが、その後、本発明者により、シリカ・アルミナ系の種々のメラニン吸着剤が合成された。そのうちでも還元物質担持水化シリカ・アルミナの吸着能が最大であつた。これら吸着剤は水には不溶で数ミクロンの粒子からなり、皮膚に深く浸透することは期待できない。

この吸着剤の侵入をたすけ、且つはメラニン色素の消失を速めるために、角質溶解剤、例えば尿素、サリチル酸を使用した。

本発明にメラニン色素吸着剤として使用される還元物質担持水化シリカ・アルミナ (水化ケイ酸アルミニウム) 吸着剤は、特許第1403942号明細書 (特公昭62-11610号広報参照) に開示されている。水化ケイ酸アルミニウム自体の合成法は特開昭55-136118号公報に詳細に記述されている。これを要約して述べれば、アルミニウム化合物、たとえば硫酸アルミニウムの強酸性溶液にシリカを加え、次にアルカリで徐々に弱酸性~中性まで中和する方法によつた。この水化ケイ酸アルミニウムは分子式 $xAl_2O_3 \cdot SiO_2 \cdot yH_2O$ (式中、 $x = 2 \sim 5$ 、 $y = 18 \sim 20$ である) で表され、X線回析像を調べると非晶質であることが解明されている。また示差熱分析によれば、60℃に有利水と吸着水にもとづく吸熱ピーク、215℃及び320℃に重合水酸化アルミニウムイオンのOH基にもとづく吸熱ピーク

ク、1000℃付近に小さい発熱ピークが認められる。

以上の特徴を有するケイ酸アルミニウムを水化ケイ酸アルミニウムと命名する。この水化ケイ酸アルミニウムの合成を行うにあたり、無機及び有機の還元性物質を添加することにより、還元性物質担持水化ケイ酸アルミニウムが生成する。担持させる還元性物質としては、無機物質としては、例えばチオ硫酸塩、亜硫酸塩、亜硫酸水素ナトリウム（重亜硫酸ソーダ）、鉄塩、銅塩、硫化塩、トリポリリン酸塩、有機物質には、例えばロンガリット、ハイドロキノン、ホルムアルデヒド、パラホルムアルデヒド、チオ尿素、システエンチオグリセリン、チオソルビトール、ビタミンE、還元型ユビキノ、グルタチオン、コハク酸などがある。これら還元性物質の一種あるいは二種以上を組合わせて担持させることにより本発明に使用される還元性物質担持水化ケイ酸アルミニウムが得られる。

VII 紫外線吸収剤

太陽光線によつて、皮膚の角質の肥厚とメラニン色素生成の促進が生ずることはよく知られている。従つて、太陽光線の影響を除去する手段をこうずることは極めて意味がある。このために紫外線吸収剤の配合を行う必要がある。紫外線吸収剤にはパラアミノ安息香酸系、サリチル酸系、ケイ皮酸系、ベンゾフェノン系、アゾー系化合物が知られている。そのいずれでもよいが、例をあげれば、ヒトの表皮に存在するウロカニン酸などがある。

以上の実験成績と理論に基づいて、メラニン生成抑制外用剤の実施を試み、幾多の実験を行った。いくつかの還元剤、無機物を使用するため、製剤には特別な注意が必要となる。通常使用される剤形には軟膏、クリーム、パツク、貼付剤などがある。以下に代表的処方例の二つを示す。

実施例 1

(処方例) メラニン生成抑制外用軟膏

成 分	重量%
尿 素	5~15
サリチル酸	0~0.5

或はサリチル酸ソーダ	0~2.0
β-ツヤブリシン	0.03~0.05
ハイドロキノン	0~2.0
ピロン化合物	0~2.5
塩酸システイン	0~2.0
アスコルビン酸ステアレート	0~0.1
ハイポ	0~2.0
Sod.metasulphite	0~0.05
Sod.sulphite anhydrous	0~0.02
アシルグルコサミン	0~2.0
SOD	0~適量
EDTA	0~0.05
α-トコフェロール	0.05~0.1
成 分	重量%
ウロカニン酸	0~1.0

以上の成分中水溶性のものは水に溶解し、カーボワックス400と4000を適當の比で混合したものに加え、更に脂溶性の成分を加え、最後に5%のメラニン吸着剤を加え、よくねり合わせる。

20 操作は全て窒素気流下で行い、遮光、気密の容器に充填する。

実施例 2

(処方例) メラニン形成抑制外用クリーム

成 分	重量 (%)
尿 素	5~10
ハイドロキノン	1.0~2.0
マルトール	1.0
塩酸システイン	1.0~2.0
精製水（溶存空気を窒素で置換したもの）	適量
サリチル酸	0.2
β-ツヤブリシン	0.03
ハイドロキノン	1.0
成 分	重量%
EDTA	0.03
α-トコフェロール	0.1
アスコルビン酸ステアレート	0.05
グリセリン	適量

窒素気流下で製造した適当なクリームに混合し、直ちに気密、遮光性の容器に充填する。

以下に本発明の軟膏及びクリームの配合成分として使用される諸化合物の単独、組合せ、配合量による作用ならびに相乗効果を表I-VIIに示す。

表Ⅰ β -ツヤブリシンとハイドロキノンのチロシナーゼ阻害作用

薬 剤	用量 ($\mu\text{g}/3\text{ml}$)	吸光度 (10分)	阻害率 (%)	発生度	相 乗 効 果
対照	0	0.203		1.00	
β -ツヤブリシン(A)	0.125	0.156	23.2	0.768	
	0.25	0.126	37.9	0.621	
	0.5	0.084	58.6	0.414	
	1.0	0.070	65.5	0.345	
ハイドロキノン(B)	0.25	0.197	3.0	0.970	
	0.5	0.169	16.7	0.833	
	1.0	0.163	19.7	0.803	
A+B	0.125+0.25	0.124	38.9	0.611	$0.768 \times 0.970 = 0.745 > 0.611$
A+B	0.125+0.5	0.105	48.3	0.517	$0.768 \times 0.833 = 0.640 > 0.517$
A+B	0.125+1.0	0.085	58.1	0.419	$0.768 \times 0.803 = 0.617 > 0.419$
A+B	0.25+0.25	0.093	54.2	0.458	$0.621 \times 0.970 = 0.602 > 0.458$
A+B	0.25+0.5	0.076	62.6	0.374	$0.621 \times 0.833 = 0.517 > 0.374$
A+B	0.25+1.0	0.055	72.9	0.271	$0.621 \times 0.803 = 0.499 > 0.271$
A+B	0.5+0.25	0.079	61.1	0.389	$0.414 \times 0.970 = 0.402 > 0.389$
A+B	0.5+0.5	0.073	67.3	0.327	$0.414 \times 0.833 = 0.345 > 0.327$
A+B	0.5+1.0	0.056	72.4	0.276	$0.414 \times 0.803 = 0.332 > 0.276$

表Ⅱ ピロコメニン酸とハイドロキノンのチロシナーゼ阻害作用

薬 剤	用量 ($\mu\text{g}/3\text{ml}$)	吸光度 (10分)	阻害率 (%)	発生度	相 乗 効 果
対照	0	0.213		1.00	
ハイドロキノン	0.25	0.199	6.6	0.934	
	0.5	0.195	8.5	0.915	
ピロコメニン酸	2.5	0.180	15.5	0.845	
	5.0	0.132	38.0	0.620	
ハイドロキノン+ ピロコメニン酸	0.25 2.5	0.151	29.1	0.709	$0.934 \times 0.845 = 0.789 > 0.709$
ハイドロキノン+ ピロコメニン酸	0.25 5.0	0.120	43.7	0.563	$0.934 \times 0.620 = 0.579 > 0.563$
ハイドロキノン+ ピロコメニン酸	0.5 2.5	0.120	43.7	0.563	$0.915 \times 0.845 = 0.773 > 0.563$
ハイドロキノン+ ピロコメニン酸	0.5 5.0	0.092	56.8	0.432	$0.915 \times 0.620 = 0.567 > 0.432$

表Ⅲ ビロン化合物のチ
ロシナーゼ阻害

ビロン化合物	濃度 ($\mu\text{g}/3\text{ml}$)	阻害率(%)		
		2分	6分	10分
3-ヒドロキシ-2-メチル- 4-ピロン(マルトール)	40	28.6	3.2	0
3-ヒドロキシ-2-エチル- 4-ピロン(エチル マルト- ール)	40	14.3	4.8	2.6
3-ヒドロキシ-2-ヒドロキ シメチル-4-ピロン(ヒドロ キシ マルトール)	40	21.4	3.2	0
5-ヒドロキシ-2-ヒドロキ シメチル-4-ピロン(ゴジ 酸)	10	93.3	68.0	52.7
	40	100	99.2	99.2
3-ヒドロキシ-4-ピロン (ピロコメニン酸)	2.5	—	24.3	15.5
	10	93.3	77.3	59.8
	40	100	100	99.6
3-アセチルオキシ-4-ピ ロン(アセチル ピロコメ ニン酸)	40	42.9	37.6	25.6

表Ⅳ 活性酸素除去作用

化 合 物	濃度 %	活性酸素除去作用				
		ピロガロール 法(%)		5-ヒドロキシド ーパミン法(%)		
		5分	10分	15秒	1分	2分
L-システイン塩酸	0.002	42.5	24.4	21.2	15.4	8.2
	0.01			32.7	42.3	31.0
L-システイン	0.002	47.5	25.2	—	—	—
	0.01			34.6	41.6	40.7
N-アセチル-L-システイン	0.002	37.5	33.3	—	—	—
	0.01			9.6	25.6	27.3
L-システイン メチルエステル塩酸	0.002	76.3	51.0	—	—	—
	0.01			34.6	36.9	32.2

化 合 物	濃度 %	活性酸素除去作用				
		ピロガロール 法(%)		5-ヒドロキシド ーバミン法(%)		
		5分	10分	15秒	1分	2分
L-システイン エチルエステル塩酸	0.002	68.8	45.6	—	—	—
	0.01			30.8	33.1	30.5
還元グルタチオン	0.01	88.8	75.5	5.8	21.5	19.5
ハイポ	0.01	4.1	3.7	0	0	0
アスコルビン酸	0.001	100	86.4	23.1	49.2	43.7

表V ドーバの酸化、
重合に対する還
元剤の抑制効果

化合物	濃度 (%)	抑制率(%)	
		48hrs	72hrs
還元剤	0.001	—	68.9
アスコルビン酸 ナトリウム	0.005	100.0	100.0
L-システイン塩酸	0.005	77.5	39.4
	0.0125	—	94.6
	0.025	—	100.0
ヒドロキノン	0.001	—	0
ハイポ	0.05	—	27.7
ハイポ+Na ₂ SO ₃	0.025+	—	99.5
	0.0016	—	—

表VI ドーバ酸化-重合
に対するUV-光線
の促進作用の抑制

化合物	濃度 (%)	抑制率(%)		
		1時間	2時間	3時間
L-アスコルビン酸	0.002	14.5	6.6	3.2
	0.01	52.0	32.0	18.0
L-システイン塩酸	0.002	42.0	33.5	25.4
	0.01	78.5	76.7	71.8
N-アセチル-L-シ ステイン	0.002	55.3	42.4	34.4
L-システイン メ チルエステル塩酸	0.002	27.7	20.9	15.7

15

化合物	濃度 (%)	抑制率(%)		
		1時間	2時間	3時間
L-システイン エ チルエステル塩酸	0.002	26.7	24.5	22.0
還元グルタチオン	0.002	34.0	30.3	24.1
	0.01	78.0	68.0	56.3
L-メチオニン	0.01	26.9	32.2	34.0
マルトール	0.01	30.7	29.1	30.8
エチル マルト ール	0.01	23.6	28.3	31.1
ヒドロキシ マル トール	0.01	28.0	30.5	33.4
25 コージ酸	0.01	40.3	42.3	43.3
ピロコメニン酸	0.01	48.2	51.2	53.7
アセチルピロコ メニン酸	0.01	48.2	42.2	40.4

30

表VII 還元剤のメラ
ニン分解能

化合物	濃度 (%)	メラニン分解率(%)		
		1日	3日	5日
35 対照	—	0	0	0
アスコルビン酸 ナトリウム	0.005	3.5	5.2	—
ハイポ+Na ₂ SO ₃	10.0	1.1	3.5	2.8
	1.28			
40 L-システイン 塩酸	1.0	26.2	50.3	51.7
	5.0	57.7	74.4	
L-システイン メチルエステル 塩酸	1.0	7.0	12.6	
	2.0	11.8	82.8	

化合物	濃度 (%)	メラニン分解率(%)		
		1日	3日	5日
L-システイン エチルエステル 塩酸	1.0	5.4	7.5	
	2.0	10.9	69.1	
N-アセチル- L-システイン	1.0	1.7	8.1	
	2.0	1.5	8.3	

5